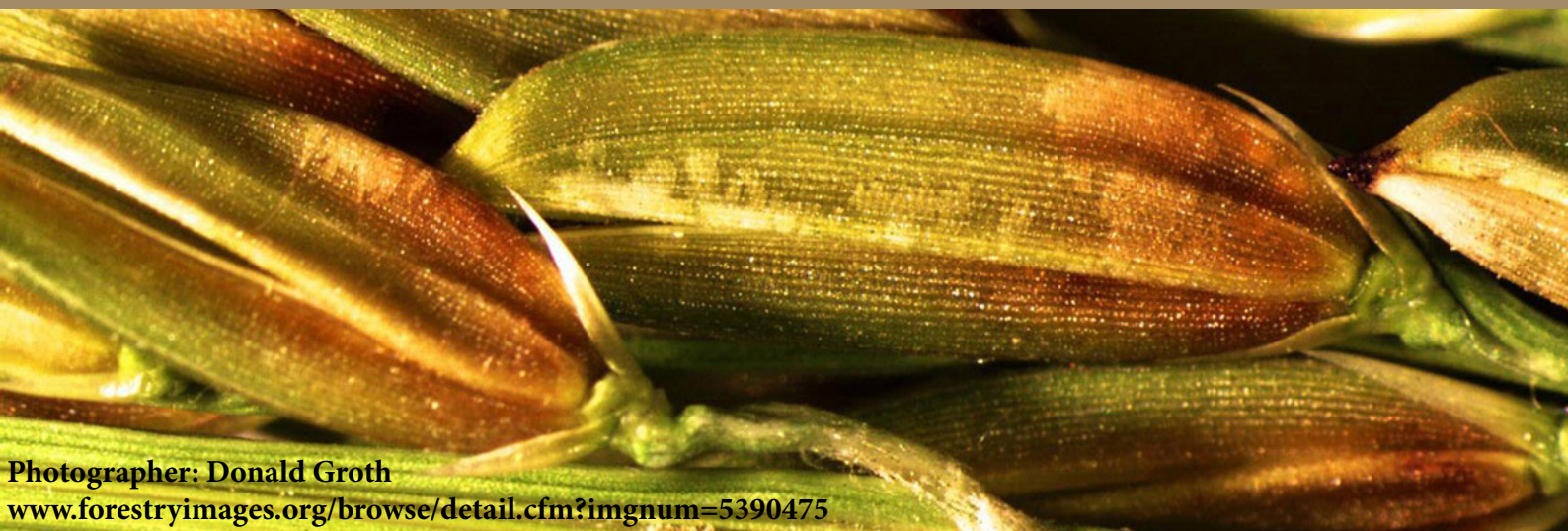




Burkholderia glumae, Bakteri Penyebab Hawar Pada Malai Padi



Photographer: Donald Groth

www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5390475

oleh: Lilis Suryani, SP. MP. - 01 November 2017

Halaman 1/5

B*Burkholderia glumae* Kurita *et* Tabei ialah bakteri penyebab hawar malai padi. Penyakit ini menyebabkan bulir membusuk dan berubah warna atau bibit membusuk. Penyakit ini menjadi masalah serius pada budidaya padi di Amerika Serikat, Jepang dan Korea (Devescovi *et al.*, 2007). Di Jepang, penyakit ini mulai menjadi masalah serius pada produksi padi sejak 1955 (Jeong *et al.*, 2003). Berdasarkan Peraturan Menteri Pertanian Nomor 51/Permentan/KR.010/9/2015 tentang Jenis Organisme Pengganggu Tumbuhan Karantina, *B. glumae* termasuk OPTK A2, dengan daerah sebar pulau Jawa, Sumatera, dan Kalimantan. Bakteri *B. glumae* termasuk bakteri tular benih. Benih padi pada umumnya diproduksi oleh produsen benih di pulau Jawa. Potensi penularan penyakit melalui benih sangat besar. Apabila bakteri menyebar ke seluruh Indonesia melalui perdagangan benih maka penyakit ini menjadi sangat penting dan berbahaya. Namun demikian, penelitian tentang bakteri *B. glumae* di Indonesia masih sedikit, karena itulah informasi tentang penyakit hawar malai padi yang disebabkan oleh *B. glumae* perlu dikaji lebih dalam.

Gejala penyakit hawar malai padi terdapat pada malai dan bibit. Malai yang terserang akan berubah warna. Kulit sekam padi berwarna coklat atau membusuk dan spikelet menjadi steril pada kondisi malam yang hangat dengan kelembaban tinggi. Sedangkan bibit mengalami hawar atau membusuk. Secara umum gejala penyakit ini disebut hawar malai (panicle blight). Gejala penyakit muncul pada saat tanaman memasuki fase berbunga (Jeong *et al.*, 2003; Devescovi *et al.*, 2007; Nandakumar *et al.*, 2009). Gejala awalnya ialah perubahan warna atau menjadi kuning pucat pada kulit sekam yang membesar dengan cepat keseluruhan kulit sekam, kemudian warna berubah putih abu-abu, kuning kecoklatan atau coklat kemerahan. Penyakit menyebabkan kehilangan hasil yang besar karena bulir menjadi steril atau tidak masak sempurna (Wakimoto *et al.*, 1987).

Penyakit hawar malai ditularkan melalui benih. Bakteri *B. glumae* menyerang bulir pada saat masih di pertanaman dan terbawa hingga panen. Bakteri dapat bertahan selama tiga tahun di dalam benih padi. Patogen tidak hanya ditemukan pada benih padi yang bergejala sakit namun juga pada benih padi yang tampak sehat atau tanpa gejala. Pada tahun 2007 penelitian Luo *et al.* pertama kali melaporkan ditemukannya *B. glumae* pada benih padi tanpa gejala (tampak sehat) di Cina. Sejumlah studi menunjukkan bahwa, pada tanaman padi, pergerakan *B. glumae* menuju ke bagian pelepah yang lebih atas tergantung pada kerapatan populasi bakteri. Kerapatan *B. glumae* yang tinggi memacu infeksi ke bagian spikelet. Bakteri tumbuh dengan cepat di dalam spikelet setelah pembungaan dan bakteri pembusuk biji berkembang. Secara umum bakteri tidak tumbuh dengan cepat dan saprofit pada padi, kecuali di dalam spikelet selama 10 hari setelah pembungaan (Hikichi *et al.*, 1998). Infeksi pada malai/biji inilah yang menyebabkan bakteri terbawa di dalam benih.

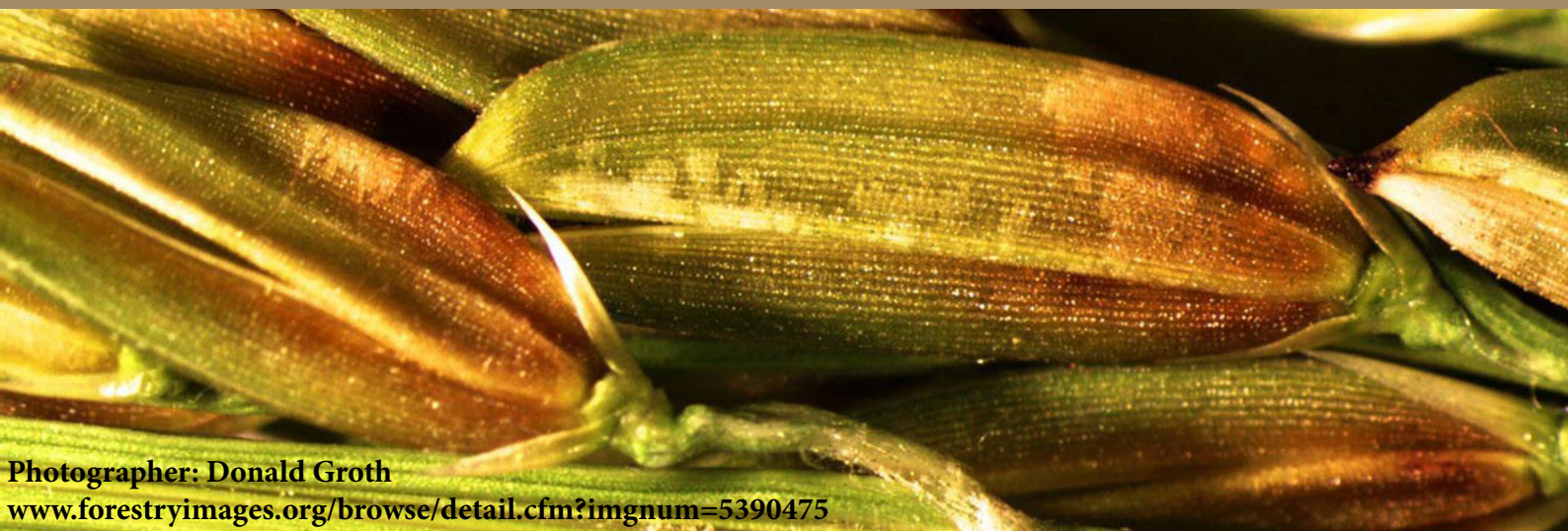
Taksonomi bakteri *Burkholderia glumae* berkembang dan berubah seiring dengan kemajuan teknologi. Bakteri ini termasuk dalam kingdom Prokaryota, divisi Gracilicutes, kelas Proteobacteria, famili Pseumonadaceae, genus Burkholderia. Bakteri ini sebelumnya dinamakan *Pseudomonas glumae*.

[Dokumentasi Kegiatan](#)

[Berita Lainnya](#)



Burkholderia glumae, Bakteri Penyebab Hawar Pada Malai Padi



Photographer: Donald Groth

www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5390475

oleh: Lilis Suryani, SP. MP. - 31 Oktober 2017

Halaman 2/5

Selanjutnya pada tahun 1992 oleh Yabuchi *et al.* mengajukan agar spesies *Pseudomonas* patogenik dari grup RNA II diklasifikasi ulang kedalam genus baru yaitu *Burkholderia* berdasarkan data taksonomi polyphasic. Genus ini terdiri dari 7 spesies ialah *B. cepacia*, *B. gladioli*, *P. plantarii*, *B. caryophylli*, *P. glumae*, *B. solanacearum*, *B. pickettii*. Pada tahun 1994, Urakami *et al.*, mengajukan perubahan nama *Pseudomonas glumae* menjadi *Burkholderia glumae*. Penelitian Maeda *et al.* (2006) menjelaskan bahwa bakteri *B. glumae* mempunyai hubungan filogeniti yang erat dengan *B. gladioli* dan *B. plantarii* yang juga menyerang padi.

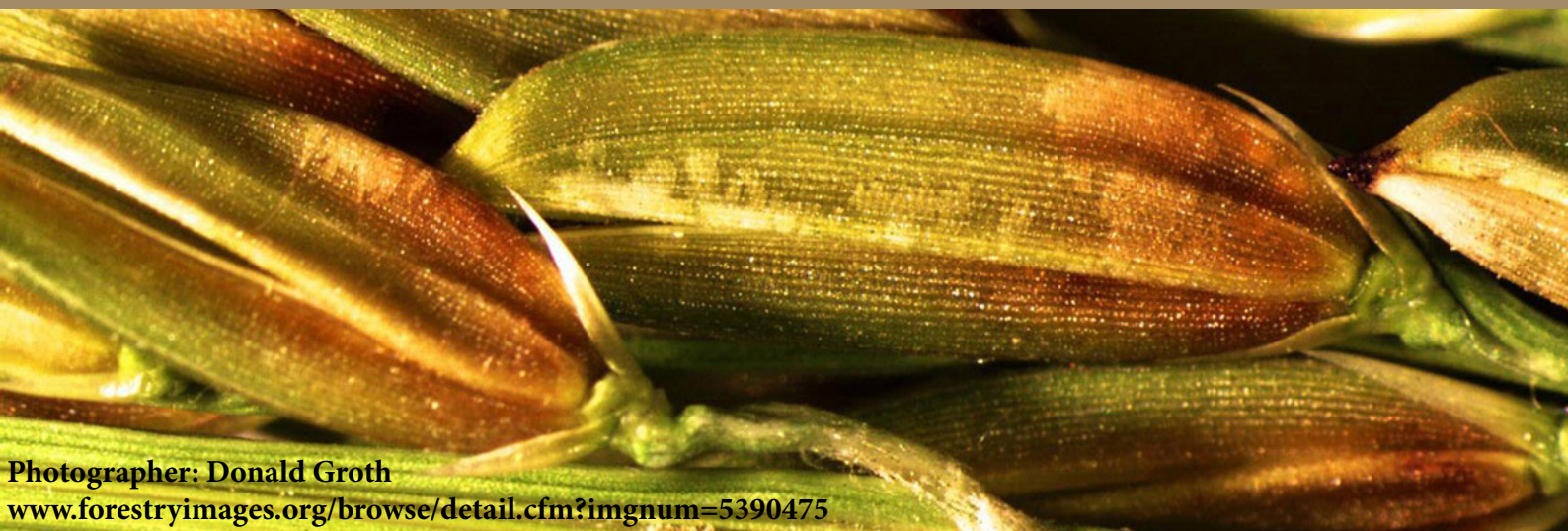
Burkholderia glumae mempunyai karakter morfologi yang khas. Koloni bakteri akan tumbuh dengan bentuk yang khas bila ditumbuhkan dalam medium spesifik yaitu medium S-PG. Koloni bakteri berbentuk bulat, cembung, seluruh koloni berwarna coklat kemerahan (tipe A), atau opalescent (seperti susu) dengan tengah berwarna ungu atau ungu kemerahan (tipe B). *Burkholderia* spp. lainnya dan pseudomonads dapat tumbuh di media tersebut namun dengan morfologi koloni yang berbeda (Schaad *et al.*, 2001). Pertumbuhan *B. glumae* pada media selektif lainnya yaitu media CCNT, bakteri akan membentuk koloni berwarna putih kekuningan dengan pigmen kuning yang terlarut dalam media sehingga mudah dibedakan dengan bakteri lainnya setelah diinkubasikan pada suhu 41°C selama 2-4 hari (Kawaradani *et al.*, 2000).

Bakteri *B. glumae* memiliki karakter biokimia yang membedakan dengan bakteri lainnya. Schaad *et al.* (2001) menjelaskan bakteri bersifat gram negatif, berbentuk lurus atau melengkung (0,5-1 µm dan 1,5-4 µm), flagel polar atau multitrichous, katalase positif dan mengakumulasi poly-β-hydroxybutyrate (PHB). Bakteri *B. glumae* dapat tumbuh pada suhu 40°C dan pada 4% NaCl, arginine dihidrolase positif, hidrolisis gel positif, hidrolisis pati negatif, hidrolisis pectate negatif. Karakter bakteri berdasarkan penggunaan sumber karbon ialah β-alanine, arginine, betaine, L-valine, adonitol, levulinate, N-propanol, D-sorbitol, trehalose, D-xylose positif. Sedangkan penggunaan sumber karbon dari benzoate, lactose, L-rhamnose, sucrose, D-tartrate negatif.

Virulensi *B. glumae* dipengaruhi oleh phytotoxin.toxoflavin. Toksin ini berperan pada perkembangan luka pada tanaman padi. Phytotoxin.toxoflavin {1,6-dimethylpyrimido[5,4-E]-1,2,4-triazine-5,7(1H,6H)-dione}, ialah pigmen kuning yang esensial untuk patogenesitas. Toxoflavin yang diproduksi *B. glumae* mengurangi pertumbuhan akar dan daun pada bibit dan memacu gejala klorotik pada malai padi (Suzuki *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 2004; Suzuki *et al.*, 2004). Produksi toxoflavin dalam *B. glumae* dan transportasinya di dalam sel tanaman diatur oleh quorum sensing melalui N-acyl homoserine lactone (Kim *et al.*, 2004; Maeda *et al.*, 2007).

Penghambatan mekanisme quorum sensing dapat dianggap sebagai suatu peluang untuk mengatur perkembangan penyakit. Akhir-akhir ini diketahui bahwa *Bacillus* spp. dan bakteri gram negatif lainnya mempunyai mekanisme seperti quorum sensing yang dinamakan quorum quenching, yang secara langsung mendegradasi molekul sinyal quorum sensing (Dong *et al.*, 2000; Lee *et al.*, 2002).

[Dokumentasi Kegiatan](#)
[Berita Lainnya](#)

**Burkholderia glumae, Bakteri Penyebab Hawar Pada Malai Padi**

Photographer: Donald Groth

www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5390475

oleh: Lilis Suryani, SP. MP. - 31 Oktober 2017

Halaman 3/5

Penelitian Cho *et al.* (2006) menggunakan *Burkholderia* sp. strain KJ006 yang bersifat non patogenik dan endofit pada tanaman padi untuk mengganggu quorum sensing *B. glumae*. Bakteri *Burkholderia* sp. strain KJ006 dimodifikasi dengan mengintroduksi gen pengkode enzim penghancur AHL (AHL lactonase aiiA) dari *Bacillus thuringiensis*. Strain KJ006 baru yang telah dimodifikasi (pKEA-aiiA) dengan sukses melemahkan perkembangan gejala yang umum disebabkan oleh *B. glumae*.

Pengendalian penyakit dilakukan dengan bahan kimia seperti tembaga, antibiotik kasugamycin, probenazole dan pyroquilon. Perlakuan benih dan aplikasi oxolinic acid (OA) pada stadia keluarnya malai dari batang (heading stage) mempunyai efikasi yang tinggi terhadap pengendalian busuk biji dan bibit. Bahan kimia menghambat pertumbuhan bakteri pada plumula dan spikelet. Sistem pengendalian dimana perlakuan benih dan aplikasi OA pada malai dikombinasikan dengan seleksi benih dengan larutan garam, mempunyai efikasi yang tinggi dan sangat berdampak pada siklus infeksi *B. glumae* (Hikichi *et al.*, 1998).

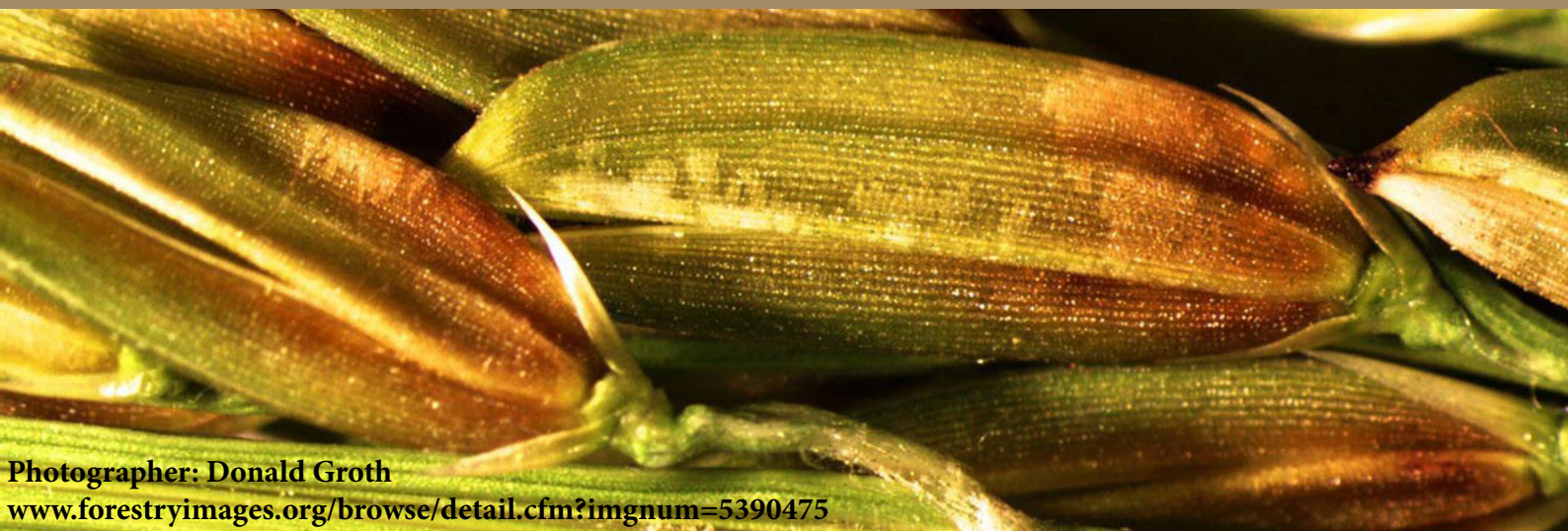
Deteksi bakteri patogen terbawa benih dapat dilakukan dengan berbagai metode, antara lain dengan media selektif, uji biokimia, uji biologi, uji ELISA atau PCR. Deteksi *B. glumae* pada benih padi dapat dilakukan dengan salah satu atau seluruh metode tersebut. Benih padi yang beredar di pasar atau di tingkat petani berpotensi membawa bakteri *B. glumae* pada kondisi benih menunjukkan gejala atau tanpa gejala. *B. glumae* pada benih padi berperan sebagai propagul awal yang dapat berkembang menjadi epidemi apabila kondisi lingkungan mendukung. Langkah-langkah untuk melakukan isolasi bakteri *B. glumae* dari benih padi dapat dilakukan dengan metode pencucian benih (Anonymous, 2008), ialah: Benih sampel yang akan diuji ditimbang, cuci benih dengan aquades steril. Sterilisasi permukaan benih dengan merendam benih dalam 10% klorox selama 2 menit, bilas dengan aquadest steril sebanyak dua kali. Benih tersebut dimasukkan ke dalam tabung Erlenmeyer yang berisi aquades steril sebanyak 10 kali berat biji. Tabung erlenmeyer yang berisi benih diinkubasi sambil digoyang menggunakan penggoyang (shaker) pada kecepatan 200 rpm selama 16-18 jam pada suhu ruang (21°C). Suspensi bakteri yang terbentuk dibuat seri pengenceran 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} dan 10^{-8} . Dari setiap seri pengenceran diambil 100 µl suspensi dan disebarkan pada medium isolasi dalam cawan petri menggunakan drigalski. Cawan petri diinkubasikan pada suhu ruang selama 24-48 jam jika dibiakkan pada media SPG, atau jika menggunakan media CCNT maka diinkubasikan selama 2-4 hari pada 41°C. Koloni bakteri yang tumbuh dipindahkan ke media yang baru sehingga diperoleh biakan murni. Setelah diperoleh biakan murni bakteri *B. glumae*, maka selanjutnya dapat dilakukan identifikasi dengan melakukan uji biokimia. Schaad *et al.* (2001) menjelaskan karakteristik yang digunakan dalam identifikasi Burkholderia. Setelah dilakukan uji biokimia maka dilakukan uji hipersensitif.

Deteksi bakteri *B. glumae* dapat dilakukan antara lain dengan media selektif. Pada tahun 1986 Taushima *et al.* menemukan media selektif SPG untuk menumbuhkan *B. glumae*. Medium tersebut terdiri atas KH_2PO_4 (1,3 g), Na_2HPO_4 (1,2 g), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (5 g), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,25 g), $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 7\text{HO}$ (24 mg), EDTA-Fe (10 mg), D-sorbitol (10 g), Methyl violet (1 mg), Phenol red (20 mg), Agar (15 g).

[Dokumentasi Kegiatan](#)
[Berita Lainnya](#)



Burkholderia glumae, Bakteri Penyebab Hawar Pada Malai Padi



Photographer: Donald Groth

www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5390475

oleh: Lilis Suryani, SP. MP. - 31 Oktober 2017

Halaman 4/5

Setelah diautoclave, tambahkan 1 ml dari larutan stok steril yang telah disaring sebagai berikut: L-cystine (1mg/100 ml stock), Pheneticillin, potassium salt (5 g/100 ml stok), Ampicillin, sodium salt (1 g/100 ml stok), Cetrimide (1 g/100ml stock). Koloni bakteri *B. glumae* pada media berbentuk bulat, cembung, seluruh koloni berwarna coklat kemerahan (tipe A), atau opalescent (seperti susu) dengan tengah berwarna ungu atau ungu kemerahan (tipe B).

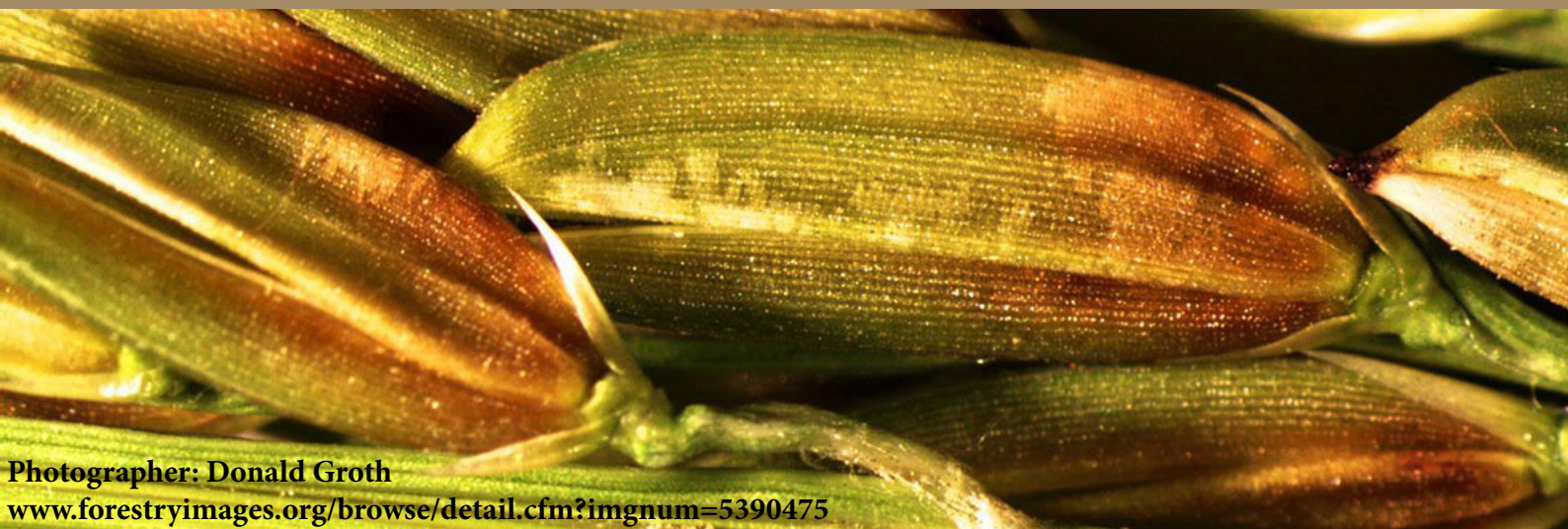
Pada tahun 2000, Kawaradani *et al.* menemukan media selektif baru CCNT dengan komposisi yang lebih sederhana dan lebih tinggi selektifitasnya dibandingkan media SPG. Koloni bakteri berwarna putih kekuningan setelah diinkubasi pada media CCNT selama 2-4 hari pada suhu 41°C dengan pigmen kuning larut dalam media. Komposisi media CCNT untuk 1 liter ialah: Yeast ekstrak (2 g), Polypepton (1 g), Inositol (4 g), Cetrimide (10 mg), Chloramphenicol (10 mg), Novoblocin (1 mg), Chlorotarone (100 mg), Agar (18 mg), Aquades (1000 ml). Setelah diperoleh biakan murni bakteri *B. glumae*, maka selanjutnya dapat dilakukan identifikasi dengan melakukan uji biokimia.

Polymerase Chain Reaction (PCR) adalah suatu reaksi *in vitro* untuk menggandakan jumlah molekul DNA pada target tertentu dengan cara mensintesis molekul DNA baru yang berkomplemen dengan molekul DNA target dengan bantuan enzim dan oligonukleotida sebagai primer dalam suatu thermocycler (mesin PCR). Dalam proses PCR diperlukan sepasang primer yang akan mengikat posisi DNA target yang kita gandakan. Panjang target DNA berkisar antara puluhan sampai ribuan nukleotida. Primer forward ialah primer yang berada sebelum daerah target sedangkan primer reverse ialah primer yang berada setelah daerah target (Anonymous, 2008). Penelitian Takeuchi *et al.* (1997) menemukan sepasang primer yang spesifik untuk deteksi *B. glumae* yaitu GL-13f (5'-ACACGG-AACACCTGGGTA-3') dan GL-14r (5'-TCGCTCTCC-CGAAGAGAT-3'). Primer ini juga digunakan oleh Luo *et al.* (2007) untuk menguji bakteri yang diisolasi dari benih tanpa gejala, dan hasilnya bakteri tersebut positif *B. glumae*.

PCR untuk deteksi *B. glumae* pada benih padi dapat dilakukan dengan mengadaptasi metode yang dilakukan oleh Takeuchi *et al.* (2007). Ekstraksi DNA tidak dilakukan langsung dari benih padi, karena benih umumnya mengandung inhibitor polimerase, sehingga benih ditumbuhkan lebih dahulu dengan metode perkecambahan (*growing on test*) agar inhibitor berkurang sehingga DNA mudah diisolasi dan perkecambahan dapat meningkatkan konsentrasi bakteri. Bibit padi yang telah dikecambahkan selama 14 hari dipotong kecil-kecil, kemudian ditimbang sebanyak 10-20 mg dan dihancurkan di dalam mortar dengan ditambahkan 1 ml larutan NaCl 0,85%. Suspensi dimasukkan ke dalam micro tube dan disentrifuge pada 10.000 rpm selama 5 menit. Pelet diresuspensikan dalam 0,1 ml akuades steril, simpan pada suhu 95°C selama 8 menit, kemudian disentrifuse pada 10.000 rpm selama 5 menit. Sebanyak 5 ml supernatan digunakan secara langsung sebagai cetakan (template) untuk PCR.



Burkholderia glumae, Bakteri Penyebab Hawar Pada Malai Padi



Photographer: Donald Groth

www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5390475

oleh: Lilis Suryani, SP. MP. - 31 Oktober 2017

Halaman 5/5



Gejala penyakit hawar malai pada padi yang disebabkan oleh *Burkholderia glumae*.

Poto: <http://www.insectimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5390474>